

## ⑫ 公開特許公報(A)

平2-238883

⑬ Int.Cl.<sup>5</sup>C 12 N 15/13  
C 07 K 15/12  
C 12 P 21/08

識別記号

ZNA

庁内整理番号

8318-4H  
8214-4B※

⑭ 公開 平成2年(1990)9月21日

審査請求 有 請求項の数 10 (全9頁)

⑮ 発明の名称 抗-Leu 3aアミノ酸配列

⑯ 特 願 平1-270152

⑰ 出 願 平1(1989)10月17日

優先権主張 ⑱ 1988年10月17日 ⑲ 米国(US) ⑳ 260558

⑳ 発 明 者 ボール・ロバート・ヒ アメリカ合衆国カリフォルニア州マウンテン・ビュー, カ  
ントン ルデロン 151, ナンバー 177

㉑ 発 明 者 ヴァーノン・ティー・ アメリカ合衆国カリフォルニア州マウンテン・ビュー, マ  
オイ リリン・コート 1259

㉒ 出 願 人 ベクトン・ディツキン アメリカ合衆国ニュージャージー州07417-1880, フラン  
ゾン・アンド・カンパ クリン・レイクス, ワン・ベクトン・ドライブ(番地な  
ニー し)

㉓ 代 理 人 弁理士 湯浅 恭三 外4名

最終頁に続く

## 明 細 書

## 1. [発明の名称]

抗-Leu 3aアミノ酸配列

## 2. (特許請求の範囲)

1. ヒト定常部を有し、かつ第2図に記載のV<sub>κ</sub>鎖に対するアミノ酸配列からなるマウス可変部を有するキメラ抗体。

2. ヒト定常部を有し、かつ第3図に記載のV<sub>λ</sub>鎖に対するアミノ酸配列からなるマウス可変部を有するキメラ抗体。

3. ヒト定常部を有し、かつ第2図に記載のV<sub>κ</sub>鎖に対するアミノ酸配列、および第3図に記載のV<sub>λ</sub>鎖に対するアミノ酸配列からなるマウス可変部を有するキメラ抗体。

4. 第4図に記載のV<sub>κ</sub>鎖に対するアミノ酸配列からなるマウス：ヒトモザイク可変部を有する抗体。

5. 第5図に記載のV<sub>λ</sub>鎖に対するアミノ酸配列からなる、マウス：ヒトモザイク可変部を有する抗体。

6. 第4図に記載のV<sub>κ</sub>鎖に対するアミノ酸配列および第5図に記載のV<sub>λ</sub>鎖に対するアミノ酸配列からなるマウス：ヒトモザイク可変部を有する抗体。

7. ヒト定常部を有し、かつ第4図に記載のV<sub>κ</sub>鎖に対するアミノ酸配列および第5図に記載のV<sub>λ</sub>鎖に対するアミノ酸配列からなるマウス：ヒトモザイク可変部を有するキメラ抗体。

8. 第4図に記載の少なくとも1種のCDRアミノ酸配列からなるマウス：ヒトモザイク可変部を有する抗体。

9. 第5図に記載の少なくとも1種のCDRアミノ酸配列からなるマウス：ヒトモザイク可変部を有する抗体。

10. 第2～5図のいずれかに記載のヌクレオチド配列のいずれかよりなる、抗-CD4薬に対するヌクレオチド配列。

## 3. (発明の詳細な説明)

(産業上の利用分野)

本発明は抗-CD4抗体のアミノ酸配列、より詳

細には抗-CD4抗体、抗-Leu 3a、およびそれらのキメラ変異体のアミノ酸配列に関する。

(従来の技術)

CD4は約55kdの分子量をもつ、特定のTリンパ球(すなわちヘルパーサブセット)上の抗原である。これは細胞膜から外側へ連続的に伸びた4ドメイン(V<sub>1</sub>~V<sub>4</sub>)からなると考えられる。

最近、CD4抗原またはCD4<sup>+</sup>細胞が自己免疫病、たとえば慢性関節リウマチおよび多発性硬化症からエイズに及び特定の免疫系疾患における関係が示されている。これらの疾患を抗-CD4剤(すなわちCD4抗原に結合し、またはその機能を遮断する化学的または生物学的物質)で治療することが示唆されている。例えば米国特許第4,695,459号明細書およびウェーバー(Weber)ら、Sci.Amer., 259:101(1988)を参照されたい。

しかし、すべての抗-CD4剤、特にすべての抗-CD4モノクローナル抗体がCD4抗原またはCD4<sup>+</sup>細胞に対して同一の効果をもつわけではない。すなわちすべての抗-CD4モノクローナル抗体がCD4上

の同一領域またはエピトープに結合するわけではない。特定のモノクローナル抗体がCD4に結合する領域は、たとえばエイズなどの疾病において重要である。サチンタウ(Salleniau)らによる、Science, 234:1120(1986)には必ずしもすべての抗-CD4抗体がCD4<sup>+</sup>細胞を用いた融合結合実験において相互に交差遮断するわけではないこと、またはCD4<sup>+</sup>細胞へのHIVの結合を遮断するわけではないことを示した。ウェーバーら(前掲)により提議された最近の研究は、CD4分子の最外ドメインすなわちV<sub>1</sub>ドメインの特定のアミノ酸配列がHIVがCD4に結合する部位であることを示唆し、これ(またはそのごく近辺)がモノクローナル抗体、抗-Leu 3a(ベクトン・ディッキンソン・イムノサイトメトリー・システムズ、BDIS)が結合する部位であることを示唆している。同様にこの部位の近辺に—ただし抗-Leu 3aが結合する部位とは異なる—他のモノクローナル抗体OKT4a(オルト・ダイアグノスティクス(ortho Diagnostics))が結合する部位がある。

抗-Leu 3aがHIVの結合を遮断しうるのは、その構造がHIVウイルスのgp120領域の一部と同一かまたはほぼ同一であることに起因する。ウイルスのgp120領域がCD4に結合することは示されている。従って抗-Leu 3aはgp120のHIV結合領域に類似した構造をもつが、ウイルス自体の疾病伝染性を欠如する。その結果、抗-Leu 3aをワクチンとして用いることが試みられた。マッテウス(Matthews)ら、Sci.Amer., 259:120(1988)

抗-Leu 3aは最初エバンス(Evans)ら、PNAS, 78:544(1981)に報告されたクローンSK3に由来するマウスモノクローナル抗体である。SK3はマウスNS-1骨髓腫細胞と、ヒト末梢血のヒツジ赤血球ロゼットで免疫処理したBALB/cマウスからの脾臓細胞とのハイブリダイゼーションに由来する。これはカッパ鎖(light chain)を含むIgG<sub>1</sub>型抗体である。しかし抗-Leu 3aはマウスモノクローナル抗体であるので、これを治療薬、たとえばエイズワクチンとして用いるには、一定の問題がある。マウスモノクローナル抗体、または事実上すべ

ての他の非ヒト抗体が、ヒト治療薬として用いた場合免疫原性であろう。マウスモノクローナル抗体は受容者の免疫系によって“非自己”として認識されるであろう。従ってマウスモノクローナル抗体を用いると宿主内に抗マウス抗体が形成され、次いでこれがそれ以上の、または後続の治療過程におけるこの薬剤の後続効果を制限するであろう。従ってヒトモノクローナル抗体の使用が望ましいと思われる。しかしヒト抗体の調製は多数の実験上および倫理上の疑問を生じる。

マウスモノクローナル抗体を抗体の結合特異性が保持された状態で免疫原性のより少ないものにするための別法の1つは、抗体を“キメラ”にすることである。この方式の一形態においては、この抗体のマウス可変部を、同一型の抗体であるが他の種、または同一種の他の系統からのものの定常部に結合させる。好ましいヒト治療形態においては、他の種とはヒトである。動物用としては、処置される種が他の種を構成するであろう。

簡単に述べる、マウス可変部に対する遺伝子を

単離し、適宜な遺伝子工学技術、たとえばRecombinant DNA: A Short Course (ワトソン(Watson)ら編、1983年)の5および6章に記載された方法によりヒト定常部に対する遺伝子にスプライスする。従って得られる遺伝子はマウス可変部およびヒト定常部を有する免疫グロブリンをコードするであろう。次いでこの新たな遺伝子を保有するベクターを免疫グロブリンの発現のために原核生物または真核生物に挿入することができる。真核生物における発現のためのこの型のキメラ抗体に関する詳細な形態は米国特許出願第644,473号明細書(1984年8月27日出願)に示され、原核細胞における発現については米国特許出願第483,457号明細書(1983年4月8日出願)に示されている。

キメラ形式の他の形態は英国特許出願第2,188,638号明細書に示され、ジョーンズ(Jones)ら、Nature, 321:522(1986)にも記載されている。この方法では、特異的マウス結合領域を保持した状態でより多くのヒト配列を遺伝子可変部に導入することによりキメラ抗体が“ヒト化”される。

あろう。さらにこの変化が免疫グロブリンの構造におけるコンフォメーションの変化をもたらし、これが免疫グロブリンの結合能または活性を改良し、または低下させる可能性がある。従って同一のコンフォメーションおよび結合特異性をもつが配列の異なる2種の免疫グロブリンを設計することが可能である。

この可能性は治療用としての抗体の形態に影響を与えるだけでなく、診断用としての抗体の特性を改良することも可能にする。たとえば、キメラまたはモザイク形態を用いて、二次特性は異なるが同一かまたは改良された結合能をもつ抗体断片(たとえばFab')を構成することができる。

免疫グロブリンのコンフォメーションもしくは構造を変化させ、またはそれをより免疫原性の低いものになしうるのが重要であることは疑いないが、この変化をなしうするためには当該抗体の特異的配列を同定する必要がある。従ってキメラ型もしくはモザイク型の抗体を形成し、またはそのコンフォメーションを変化させるためには、その配

この形態の抗体は、マウスおよびヒト免疫グロブリン双方の可変部が、3個の相補性決定残基部分(CDR)が間に挿入された4個の枠組み残基部分(PR)からなるという事実を利用している。CDRは抗原の結合を媒介する。従ってこの方法では、1または2以上のCDRをコードするマウス可変部遺伝子をヒト枠組み可変部へスプライスし、得られた“モザイク”可変部をヒト定常部へスプライスして、異なる型のキメラ抗体を形成する。これらの構造を含むベクターを前記の発現系内へトランスフェーすることができる。伝統的な形およびモザイク形のキメラ抗体に関する模式図を第1図に示す。

いかなる特定のモノクローナル抗体についても遺伝子配列を操作しうることから、さらに抗体を厳密な設計明細書に対し設計する条件が得られる。適宜な組換えDNA技術を採用することにより、可変部遺伝子の核酸配列における特定の突然変異体を作成することができる。場合により、これによって免疫グロブリンのアミノ酸配列が変化するで

列を知らなければならない。これが分かると、次いでその治療性を改良することができる。

#### (発明の構成)

本発明はモノクローナル抗体である抗-Leu 3a可変部のアミノ酸配列からなる。本発明はさらに、抗-Leu 3a可変部のCDR部分それぞれのアミノ酸配列からなる。可変部に関するアミノ酸配列を有するキメラ抗体、および可変部のCDR部分に関する1または2以上のアミノ酸配列を有するモザイク抗体も本発明に包含される。

図面について簡単に説明する。

第1図はキメラおよびモザイクIgG抗体を模式的に比較したものである。キメラ抗体はマウス可変部( )およびヒト定常部( )からなる。マウス可変部はCDR( )およびPR( )を含む。モザイク抗体はマウスCDR( )およびヒトPR( )を含む合成マウス-ヒト可変部( )、ならびにヒト定常部からなる。

第2図はクローン化抗-Leu 3a鎖可変部遺伝

子260-V<sub>H</sub>のヌクレオチド鎖および推定アミノ酸配列からなる。

第3図はクローン化抗-Leu 3a H鎖(heavy chain)可変部遺伝子316-V<sub>H</sub>のヌクレオチドおよび推定アミノ酸配列からなる。

第4図はモザイク抗-Leu 3a L鎖可変部遺伝子KOL/206-V<sub>L</sub>のヌクレオチドおよび予想アミノ酸配列からなる。

第5図はモザイク抗-Leu 3a H鎖可変部遺伝子KOL/316-V<sub>H</sub>のヌクレオチドおよび予想アミノ酸配列からなる。

第6図はモザイクL鎖およびH鎖可変部に関する模式的な合成法を示し、ここでFRを薄いボックス、CDRは厚いボックス、制限部位は矢印、オーバーラップした一本鎖オリゴヌクレオチドは各遺伝子の下方の実線により示される。

第7図は抗-Leu 3a可変部配列を含むヒト-カッパおよびヒト-ガンマ1発現ベクターの部分DNA制限地図からなり、ここでエクソンは白いボックスで示され、エンハンサー要素は白丸で示され、

子内には各種のイントロンおよびエクソンが存在する。

第2図について、抗-Leu 3aのカッパL鎖の可変部配列は下記により決定された。マウス可変部L鎖遺伝子を含むDNAは、ハイブリダイゼーションプローブを用いてゲノムライブラリーをスクリーニングすることにより、クローンSK3から単離された。ゲノムDNAをNboIで部分消化し、ラムダ置換ベクターEMBL3またはEMBL4中へリゲートし、パッケージし、適宜な宿主、大腸菌(E. coli)上で増幅した。ライブラリーをマウスJ<sub>H</sub>-C<sub>H</sub> イントロンからの~0.85Kb SacI-HindIIIプローブ、またはマウスH鎖イントロンからの~0.70Kb XbaI-EcoRI エンハンサープローブによりスクリーニングした。サザン・ブロッティングにより陽性のクローンを明らかにし、次いでこれらをクローニングベクターpUC13中へサブクローン化した。

L鎖およびH鎖可変部それぞれにつきDNAが単離されると、これをサンガー(Sanger)ら、PNAS, 74:5463(1977)の連鎖停止法により配列決定した。

優性の選択性マーカーは影付きボックスにより表わされ、抗生物質耐性遺伝子は破線で表わされる。

第2~5図に関しては推定アミノ酸配列を3文字コードでヌクレオチド配列の下方に示す。成熟蛋白質の配列は大文字で示され、リーダーペプチドは小文字で示される。CDRは四角で囲む。DNA調節因子(たとえばバルスロウボックスおよびTATAボックス)は肉太文字(ボールド体)で強調される。供与体および受容体スプライス部位にはアンダーラインを付し、スプライス接点は上向きの矢印で示される。

マウス免疫グロブリンゲノムのオーガニゼーションについてはホンジョー(Honjo), Ann. Rev. Immunol., 1:499(1983)に十分述べられている。要約すると、免疫グロブリン遺伝子系はL<sub>H</sub>, L<sub>L</sub> およびH鎖遺伝子の3種の別個の座からなり、各鎖は可変部(V) および定常部(C) 遺伝子を含む。L<sub>H</sub>, L<sub>L</sub> およびH鎖遺伝子はマウス染色体上ではそれぞれ6、16および12に位置し、ヒト染色体上ではそれぞれ2、22および14に位置する。各遺伝

適宜な制限断片を配列決定用ベクターM13mp18、M13mp19 およびpTZ19R、ならびにクローニングベクターpUC13中へサブクローニングした。S-標識誘型をクローン断片またはAMV-逆転写酵素により配列決定した。

538-882位のヌクレオチド配列が抗-Leu 3a V<sub>H</sub> 鎖に対するコード部位を構成する。549-881位のヌクレオチド配列に対応するアミノ酸配列が、さらに抗-Leu 3aカッパL鎖の可変部の構造を構成する。

第3図について述べると、抗-Leu 3aのH鎖に対する可変部配列が前記のL鎖の場合と同様にして決定された。ただし適宜な制限断片を配列決定用ベクターM13mp18 およびM13mp19 (フルマシヤ)、ならびにクローニングベクターpUC12およびpUC13中へサブクローン化した。

373-738位のヌクレオチド配列が抗-Leu 3a V<sub>H</sub>鎖に対するコード部位を構成する。384-737位のヌクレオチド配列に対応するアミノ酸配列が、さらに抗-Leu 3a H鎖の可変部の構造を構成する。

単離後に、これら可変領域それぞれまたはいずれかのヌクレオチド配列をヒト定常部に対するヌクレオチド配列と結合させることができる。結合後に、これらが結合されたベクターをキメラ抗体産生のための発現系に挿入することができる。好ましくは米国特許出願第644,473号明細書に示されたモリソンおよびオイの方法を採用してキメラ抗体を形成することができる。ただし原核生物系、たとえば大腸菌においてキメラ抗体を形成するためには、米国特許出願第483,457号明細書に示された方法を採用することができる。

要約すると、206-V<sub>H</sub>および316-V<sub>H</sub>可変部遺伝子をヒトκカッパおよびヒトγ1定常部遺伝子にスプライスし、それぞれベクターpSV184neoおよびpSV2ΔHsp1に挿入した。206-V<sub>H</sub>遺伝子はJ<sub>H</sub>およびC<sub>H</sub>エクソン間の大型イントロン中に位置する特異なBlnI II部位においてヒトκカッパ遺伝子にスプライスされた。316-V<sub>H</sub>遺伝子はJ<sub>H</sub>およびC<sub>H</sub>エクソン間の大型イントロン中に位置する特異なBcoRI部位においてヒトγ1遺伝子にスプ

ライスされた。

真核細胞系列のトランスフェクションはモリソン(Morrison)ら、PNAS, 81:6851(1984)に記載の方法により行われた。

このトランスフェクションにより得られたキメラ細胞系列の1つをV23と命名した。この細胞系列はCD4<sup>+</sup>細胞のCD4抗原に結合するキメラマウス:ヒトγ1免疫グロブリンを産生する。これはフローサイトメトリー分析により確認され、また標識細胞から得た抗原-抗体複合体のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって確認された。

第4および5図について述べると、次にV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub> CDRのヌクレオチド配列を決定した。モザイクL鎖可変部はそれぞれ6つのオリゴヌクレオチドからなる200塩基対の制限断片2個から合成された。モザイクH鎖可変部はそれぞれ4つのオリゴヌクレオチドからなる100塩基対の制限断片2個、および8つのオリゴヌクレオチドからなる200塩基対の制限断片1個から合成された。第6図を

参照されたい。

遺伝子コードの縮重を利用して、次いで特異な制限部位を各遺伝子内ヘデザインして、カセット式突然変異(cassette mutagenesis)によるCDR置換を容易にする。こうして、既存のDNA配列を合成二本鎖制限断片で置換することにより、異なるアミノ酸配列を導入することができる。V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>鎖双方に対するFR源としてヒト骨髓腫細胞系列KOLを用いた。ただしこれはラムダL鎖を含む。KOLは先にベルンスタイン(Bernstein)ら、J.Mol. Biol., 112:535(1977)に記載されている。次いで、得られたモザイク遺伝子を細菌用クローニングベクターpTZ18RおよびpTZ19R(ファルマシア)中へサブクローン化し、両鎖につき前記の連鎖停止法により配列決定した。

第4図について述べると、43-387位のヌクレオチド配列がモザイクV<sub>H</sub>鎖を構成する。120-164、210-230および327-353位の配列がそれぞれCDR<sub>1</sub>、CDR<sub>2</sub>およびCDR<sub>3</sub>領域を構成する。次いで各CDRに対するアミノ酸配列をヌクレオチド配列から推定

した。

第5図について述べると、20-385位のヌクレオチド配列がモザイクV<sub>L</sub>鎖を構成する。121-136、178-228および325-351位の配列がそれぞれCDR<sub>1</sub>、CDR<sub>2</sub>およびCDR<sub>3</sub>領域を構成する。次いで各CDRに対するアミノ酸配列をヌクレオチド配列から推定した。

次いで前記のように、これらのモザイク構造をそれぞれの定常部遺伝子にスプライスするために発現ベクターを形成した。ベクターpSV184ΔHsp1およびpSV2ΔHsp1をそれぞれV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>モザイクと共に用いた。前記のようにKOLからの定常部も用いた。各ベクターは可変部モザイクの挿入を可能にするために、部位突然変異(site-directed mutagenesis)により修飾された。第7図参照。

真核細胞系列のトランスフェクションはオイ(Oi)およびモリソン(Morrison)、BioTechniques, 4:214(1986)に記載の方法により行われた。

このトランスフェクションにより得られたモザイク細胞系列の1つを1B1-21と命名した。この細

細胞系は、CD4<sup>+</sup>細胞のCD4抗原に結合するモザイクマウス：ヒト-ガンマ1免疫グロブリンを産生する。これはフローサイトメトリー分析により確認され、また標識細胞から得た抗原-抗体複合体のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により確認された。

キメラおよびモザイク抗-Leu 3a抗体を産生する上記V23 および181-21細胞系はベクトン・ディッキンソン・モノクローナル・センター（カリフォルニア州 マウンテン・ビュー）のドクター・ベルノ・オイの研究所に寄託されている。当業者にはこれらが抗-Leu 3a由来配列の唯一の可能な組合せでないことは明らかであろう。他の組合せの配列には下記のものが含まれる。

1) 構造中のすべてではないCDRがマウス由来のもの（たとえば抗-Leu 3aからの一方または双方の鎖中のCDR、を他種からのCDR<sub>1</sub>およびCDR<sub>2</sub>と結合したもの）、2) H鎖またはL鎖のみがキメラまたはモザイクであるもの（従って他方の鎖は完全にマウス由来のもの）、ならびに3) モザイク鎖および

キメラ鎖からなる構造をもつもの。他の構造は、抗-Leu 3aの構造および抗-CD4結合機能をもつが、必ずしも抗-Leu 3a配列全体を含むわけではない種々のヌクレオチド配列から形成されていてもよい。さらに他の構造は抗体の一部のみ（たとえばFab'断片）を喪失するものであってもよい。最後に、抗-Leu 3a様結合機能（ただし免疫グロブリン構造を欠如する）および第2～5図に記載したいずれかの変異体の配列の双方を含む抗-CD4ペプチドからなる他の構造を形成することができる。

この明細書中に述べた文献および特許出願明細書はすべて本発明に関連する当業者の水準を示す。これらの文献および明細書をすべて参考としてここに引用し、個々の文献または明細書が詳細にかつ別個に参考として引用されたこととする。

本発明において特許請求の範囲に記載の精神または範囲から逸脱することなく多くの変更および修正をなしうることは当業者に明らかであろう。

#### 4. (図面の簡単な説明)

第1図はキメラおよびモザイクIgG抗体を模式的に比較した模式図である。

第2図はクローン化抗-Leu 3a L鎖可変部遺伝子206-V<sub>L</sub>のヌクレオチド鎖および推定アミノ酸配列を示す配列図である。

第3図はクローン化抗-Leu 3a H鎖可変部遺伝子316-V<sub>H</sub>のヌクレオチド鎖および推定アミノ酸配列を示す配列図である。

第4図はモザイク抗-Leu 3a L鎖可変部遺伝子KOL/206-V<sub>L</sub>のヌクレオチド鎖および推定アミノ酸配列を示す配列図である。

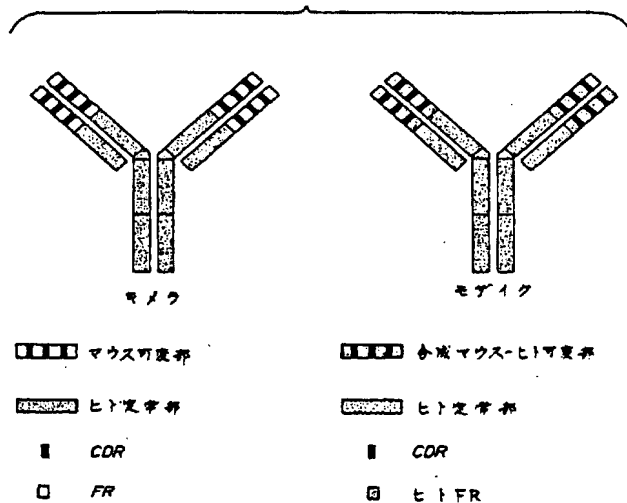
第5図はモザイク抗-Leu 3a H鎖可変部遺伝子KOL/316-V<sub>H</sub>のヌクレオチド鎖および推定アミノ酸配列を示す配列図である。

第6図はモザイクL鎖およびH鎖可変部に関する模式的な合成法を示す模式図である。

第7図は抗-Leu 3a可変部配列を含むヒト-カッパおよびヒト-ガンマ1発現ベクターの部分DNA制限地図である。

図面の浄書(内容に変更なし)

第 1 図





第 4 圖

KOL/206-VL

```

10          20          30          40          50          60
GAATTCTCTGTGAACATATCTATTTCCTCTCTCATTCTTTTCAGCTTCCACCAGCTGAAAGCG
                                     P a s e r s e r s e r G l u S e r V

70          80          90          100         110         120
TGTTAAACCAACCTGCCATCTGCTTCTGGCACTCCTGGCAACCGCTACCAATCTCTCTGCT
a l l e u T h r G l n P r o P r o S e r A l a S e r G l y T h r P r o G l y G l n A r g V a l T h r I l l e S e r C y s

130         140         150         160         170         180
AACCTACCCAAACTGTCTATTATCATCGTGTATAGTATATGAACTCGTATCAACAACCTTC
y a l A s e r G l n S e r V a l A s p T y r A s p G l y A s p S e r T y r M e t A s n F r p T y r G l n G l n L e u F

190         200         210         220         230         240
CCCGGATGGCACCCAAAGCTTCTCATCTATCTGCATCCAATCTCGGAATCTCGAGTCCCAA
r o G l y M e t A l a P r o L y s L e u L e u I l e T y r A l a A l a S e r A s n L e u G l u S e r G l y V a l P r o T

250         260         270         280         290         300
CCACGATTAGTGCATCCAAAGCTCGGACATCTGCATCTCTCGCTATCAGTGGTCTACAGG
h r A r g P h e S e r G l y S e r L y s S e r G l y T h r S e r A l a S e r L e u A l a I l e S e r G l y L e u G l u A

310         320         330         340         350         360
CAGAGCATGACTCAAGATTATTACTGCCAACAATCATATGAAGATCTCTCGGCACATTCGGTA
l e G l u A s p G l u S e r A s p T y r T y r C y s G l n G l n S e r T y r G l u A s p P r o P r o T h r P h e G l y T

370         380         390
CCGGAAACCAAAAGTGACTGTACTACGAGCTTAAGTAGAC
h r G l y T h r L y s V a l T h r V a l L e u G l y A

```

第 5 圖

KOL/315-VII

10 20 30 40 50 60  
CAATTCTCTGTTTTCCTTTCAGCTCTCCAGACTGAGGTCCAACTAGTCGCAGCTTGGAGCAGCC  
| yValGlnSerGluValGlnLeuValGlnSerGlyGlyGly

70 80 90 100 110 120  
GTGCTGCACCCCTGGGAGTCTCTGAGACTGTCTCTGAGCTCTCGAATTCATCTTCAGCT  
ValValGlnProGlyArgSerLeuArgLeuSerCysSerSerSerGlyPheIlePheSer

130 140 150 160 170 180  
CAGTACGTAATAAACTCGGTGAGACGGCTCCAGGCAAAAGCCCTTGACTCGGTCGGCTCAG  
AspTyrValIleAsnTrpValArgGlnAlaProGlyLysGlyLeuGluTrpValAlaGlu

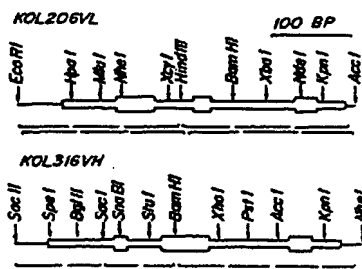
190 200 210 220 230 240  
ACCTTACTCGATCCGGCTACTAGTTATTACAATGACAAGTTCACGGACCTTCACAAATC  
ThrTyrThrGlySerGlySerSerTyrTyrAsnGluLysPheLysAsnArgPheThrIle

250 260 270 280 290 300  
TCDAAGAAACGACTCCAAGAACACACTCTTCTCTGCAAGATCGACTCTCTGAGACCTGAGGAC  
SerArgAsnAspSerLysAsnThrLeuPheLeuGlnMetAspSerLeuArgProGluAsp

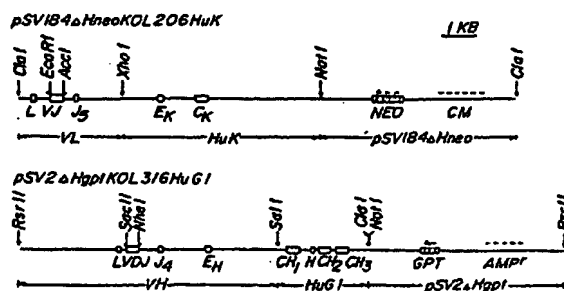
310 320 330 340 350 360  
ACTGCGACTCTACTCTCTGCAAGAAGAGCTAAAGAAAGGCTTTGCTTTCTCGCGTCAA  
ThrGlyValTyrPheCysAlaArgArgGlyLysGlyThrGlyPheAlaPheTrpGlyGln

370 380 390 400 410  
GOTACCCCTCTCACTGCTCTTCTCACTGAGTCCCTAACTCTCTCCCACTTCTAGA  
GlyThrProValThrValSerSerG

第 6 圖



第 7 圖



第1頁の続き

⑤Int. Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号
G 01 N 33/531	A	7906-2G
33/577	B	7906-2G
// A 61 K 39/395	ABA N	8829-4C
(C 12 P 21/08		
C 12 R 1:91)		

手続補正審(方式)



平成 2年 3月 1日

特許庁長官 吉田 文 毅 殿

1. 事件の表示

平成1年特許願第270152号

2. 発明の名称

抗-Leu 3aアミノ酸配列



3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人  
住 所

名 称 ベクトン・ディッキンソン・アンド・カンパニー

4. 代 理 人

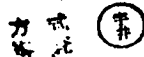
住 所 東京都千代田区大手町二丁目2番1号  
新大手町ビル 206区  
電 話 270-6641~6646  
氏 名 (2770) 弁護士 湯 浅 恭 三



5. 補正命令の口付 平成 2年 1月30日 (発送日)

6. 補正の対象

適正な図面



7. 補正の内容

別紙の通り(尚、図面の内容には変更なし)